Neue Erkenntnisse über das natürliche Vorkommen, Verhalten und den Sitz des reduzierenden Körpers in pflanzlichen Produkten und seine Identität mit der Ascorbinsäure (Vitamin C)

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

DER NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT
DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT
ZU FRANKFURT AM MAIN

vorgelegt von

Hans Henke
aus Frankfurt a. Main-Griesheim

1936

Dissertations-Druckerei F. W. Kalbfleisch in Gelnhausen.

Referent: Dr. phil. habil. R. Strohecker.

Tag der mündlichen Prüfung: 6. April 1936.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meiner Mutter.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547420_0113

Einleitung.

In vielen Arbeiten, die in unserem Institut durchgeführt worden sind, zeigte es sich immer wieder, daß das in frischen Pflanzenteilen mittels der Titration mit 2,6-Dichlorphenol-Indophenol nach J. Tillmans (1—2) gefundene Reduktionsvermögen mit deren Ascorbinsäuregehalt übereinstimmt.

Nachdem an Äpfeln die günstigsten Arbeitsbedingungen festgestellt waren, sollen in vorliegender Arbeit nun auch bisher noch nicht untersuchte pflanzliche Produkte, insbesondere Wildfrüchte, Hölzer und Blätter, auf ihr Reduktionsvermögen hin geprüft und die Identität des reduzierenden Stoffes mit Ascorbinsäure bewiesen werden.

Vor allem wird aber dabei noch das Augenmerk darauf gerichtet, ob an bestimmten Stellen der Pflanze das Reduktionsvermögen ausgebildet wird. Hierbei gab die mikroskopische Untersuchung mit 1%igessigsaurer 5%iger Silbernitratlösung behandelter Pflanzenteile wertvolle Aufschlüsse.

Weiterhin interessierte noch, wie sich das Reduktionsvermögen von Blättern in Kohlensäure- und Stickstoff-Atmosphären, im Licht und im Dunkeln verhält. Darüber hinaus sollte aber auch das Reduktionsvermögen im Jahresablauf verfolgt werden, wobei es mit darauf ankam, den Einfluß von Witterungserscheinungen auf die Reduktionskraft lebender Pflanzenteile festzustellen.

I. Allgemeine Arbeits-Methoden.

Die Herstellung der reduzierenden Auszüge wird derart ausgeführt, daß man das pflanzliche Material mit einem rostfreien Messer zerkleinert und, um einen allzulangen Luftzutritt zu vermeiden, möglichst schnell in eine 1%ige Essigsäure bringt. Die zum Ausziehen benötigte 1%ige Essigsäure stellt man am besten durch Verdünnen mit ausgekochtem destilliertem Wasser dar, das man unter Durchleiten von Stickstoff abgekühlt hat.

Einen Ansatz erhitzt man dann unter Durchleiten von Stickstoff schnell zum Sieden und hält ihn 10 Minuten im Kochen. Danach wird der heiße Kolbeninhalt sofort durch ein Leintuch in einen in Eis eingebetteten Erlenmeyer filtriert, gut ausgepreßt und unter Einleiten von Stickstoff auf Zimmertemperatur abgekühlt.

Meistens wurden etwa 10 gr. Untersuchungsmaterial mit 90 ccm. unserer Essigsäure extrahiert und das Filtrat mit derselben Essigsäure auf 100 ccm. aufgefüllt.

Sollte das Filtrat sehr trübe sein und ist eine Klärung erstrebenswert, so wird am besten in fest verschlossenen Zentrifugenröhrchen zentrifugiert und die geklärte Lösung vom Bodenkörper abgegossen. Der Extrakt ist jetzt fertig zur Titration. Diese wird nach J. Tillmans (1—2) mit einer n/1000 2,6-Dichlorphenol-Indophenol-Lösung, die gegen eine n/100 Lösung von Mohr'schem Salz eingestellt wird, ausgeführt.

Man unterscheidet hierbei zwei Methoden:

1) bei farblosen oder nur schwach gefärbten Filtraten kann man eine abgemessene Menge direkt durch Einlaufenlassen der Farbstofflösung titrieren.

Man arbeitet bei zwei verschiedenen p_H-Stufen und vergleicht die erhaltenen Werte.

Ausführung:

10 ccm. des Auszugs werden mit gesättigter Natriumacetatlösung versetzt, bis die Lösung des Farbstoffes blau eintropft. Es wird hierbei etwa das $p_H = 5$ erreicht. Man titriert nun bis der blaue Farbton bestehen bleibt.

10 weitere ccm werden mit einigen Tropfen Eisessig angesäuert, es wird etwa das $p_H = 2{,}5$ erreicht und nun wird auf Bestehenbleiben des roten Farbtons titriert.

Stimmen die beiden gefundenen Werte schlecht überein, so deutet das auf andere reduzierende Körper neben der Ascorbinsäure hin. Die im roten Farbgebiet ermittelten Werte sind dann meist genauer.

2) Die Nitrobenzolmethode gestattet auch eine Titration stark gefärbter Auszüge. Sie beruht darauf, daß im Überschuß zugegebener Farbstoff von Nitrobenzol gelöst wird und dieses rötet. Man erkennt hierbei die geringste Färbung gegen ein Vergleichsglas mit reinem Nitrobenzol. Die Arbeitsmethode ist von F. Siebert (3) ausgearbeitet worden; man kann hier den Endpunkt der Titration sehr scharf ermitteln.

II. Das Verhalten des Reduktionsvermögens von Äpfeln bei Verlängerung der Kochdauer und bei Einwirkung von Mineralsäuren.

In Arbeiten, die in unserem Institut durchgeführt wurden, konnten H. Baier (8), J. Effern (9), K. Ensslin (10) und Th. Harth (11) an den verschiedensten Gewürzen, sowie bei Kaffee und Tee zeigen, daß das in schwefelsauren und salzsauren Auszügen aus den genannten Stoffen erhaltene Reduktionsvermögen zum größten Teil erst bei der Einwirkung dieser Mineralsäuren durch hydrolytische Spaltungen gebildet wird.

Die im folgenden Abschnitt beschriebenen Versuche sollten nun aufklären, ob auch bei den von H. Stammler (12) in schwefelsauren Auszügen aus unreifen Äpfeln erhaltenen Reduktionswerten die Bildung des Reduktionsvermögens durch Hydrolyse eine Rolle spielt.

Daß sich in Äpfeln Ascorbinsäure findet, wurde durch Arbeiten von G. Krauß (13) sichergestellt.

Als Untersuchungsmaterial für diese Versuchsreihe dienten unreife Äpfel, die jedes Mal ganz frisch von dem gleichen Baum gepflückt waren.

Die mit einem Hornmesser zerkleinerten Äpfel wurden mit dem jeweils in Frage kommenden Extraktionsmittel unter Stickstoff 10 Minuten gekocht, filtriert und nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur titriert. Da der Extrakt schon bei einem essigsauren Auszug rötlich ist, bei mineralsaurer Behandlung sogar stark rot wird, wurden alle Titrationen der Einheitlichkeit halber nach der Nitrobenzolmethode (siehe oben) durchgeführt. Die Versuchsergebnisse werden derart angegeben, daß

die für 10 gr. Ausgangsmaterial verbrauchte Menge der n/1000 Farblösung angeführt wird.
1) Die zerkleinerten Äpfel wurden mit 1%iger Essig-Säure, wie auf Seite 6 beschrieben, extrahiert.
Verbrauch: 4,0 ccm.
2) Der essigsaure Extrakt von 1) wurde 1%ig salzsauer gemacht, wiederum 10 Minuten gekocht, abgekühlt und titriert.
Verbrauch: 4,75 ccm.
3) Die zerkleinerten Äpfel wurden 10 Minuten mit 1%iger Salzsäure unter Stickstoff extrahiert, abgekühlt, filtriert und titriert.
Verbrauch 9,0 ccm.
4) Der salzsaure Extrakt von 3) wurde mit Natriumkarbonat neutralisiert, dann 1%ig essigsauer gemacht und titriert.
Verbrauch: 8,95 ccm.
5) Die zerkleinerten Äpfel wurden mit 1%iger Schwefelsäure extrahiert.
Verbrauch: 10,5 ccm.

Wie ersichtlich, ist bei mineralsauren Auszügen aus unreifen Äpfeln ein erhöhter Farbstoffverbrauch zu beobachten, was aber wohl nicht auf eine stärkere Extraktion der Ascorbinsäure zurückzuführen ist, sondern seinen Grund in hydrolytischen Erscheinungen hat. Hierbei handelt es sich, wie die Versuche zeigen, hauptsächlich um die Einwirkung auf Stoffe, die im essigsauren Kochauszug unlöslich sind.

Nachdem nun die vorstehend beschriebenen Versuche auch hier die Tatsache der Hydrolyse belegt hatten, wie sie schon vorher an anderen pflanzlichen Produkten durch die oben erwähnten Arbeiten von H. Baier (8) J. Effern (9), K. Ensslin (10) und Th. Harth (11) bestätigt worden war, sollte weiterhin die Kochdauer, die bisher immer 10 Minuten betrug, verlängert werden, um ihren Einfluß auf die Höhe des durch Hydrolyse gebildeten Reduktionsvermögens kennen zu lernen.

Der Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß das zerkleinerte Äpfelmaterial im Rundkolben am Rückflußkühler unter Stickstoff mit 1%iger Essigsäure, Salzsäure und Schwefelsäure gekocht wurde. Nach einer Kochdauer von 20 Minuten entnahm ich die erste Probe und dann im Abstand von je 1/4 Stunde noch 4 Mal weitere Proben. Der Rest wurde insgesamt 3 1/2 Stunden gekocht.

Da die oben beschriebenen Versuche 3) und 4) gezeigt hatten, daß die Menge der zur Titration der salzsauren Auszüge benötigten n/1000 Farblösung sich fast nicht ändert, ob man nun direkt in der salzsauren Lösung titriert, oder ob man erst die Salzsäure mit Natriumkarbonat abstumpft und dann wieder essigsauer macht, so wurden die salzsauren Extrakte stets direkt titriert.

Ergebnis mit 1%iger Essigsäure.

Kochdauer	n/1000 Farbstoffverbrauch für 10 Gramm
20 Minuten	4,1 ccm.
35 „	4,1 „
50 „	4,5 „
65 „	4,6 „
80 „	3,85 „
210 „	3,7 „

Ergebnis mit 1%iger Salzsäure.

Kochdauer	n/1000 Farbstoffverbrauch für 10 Gramm
20 Minuten	8,75ccm.
35 „	9,25 „
50 „	9,25 „
65 „	9,5 „
80 „	9,5 „
105 „	9,5 „

Ergebnis mit 1%iger Schwefelsäure.

Kochdauer	n/1000 Farbstoffverbrauch für 10 Gramm
20 Minuten	9,75ccm.
35 „	9,75 „
50 „	10,0 „
65 „	9,75 „
80 „	10,0 „
105 „	9,75 „

Diese Kochversuche zeigen, daß beim Arbeiten unter Stickstoff die Dauer keine große Rolle spielt, daß also die reduzierende Substanz auch eine längere Erhitzung, insbesondere in mineralsaurer Lösung, ohne Zerstörung gut aushält.

Auf Grund aller vorgenommenen Untersuchungen wurde gefunden, daß bei der Behandlung mit 1%iger Essigsäure eine Kochdauer von 10—15 Minuten vollkommen ausreicht. Alle weiterhin benötigten Auszüge sind denn auch in dieser Weise hergestellt worden.

III. Untersuchungen über das Reduktionsvermögen verschiedener pflanzlicher Produkte.

Bei den hier beschriebenen Arbeiten handelte es sich in erster Linie darum, Aufklärung zu schaffen über die Reduktionsvermögen von Wildfrüchten und Blättern, auch denen von Nadelhölzern, dann weiterhin noch von Rinde und Holz unserer bekanntesten deutschen Waldbäume. Hierbei wurden größtenteils solche Pflanzenteile untersucht, die bis heute nur wenig oder noch garnicht bearbeitet sind.

Auch hier wurde alles verwendete Material ganz frisch abgemacht, ins Laboratorium gebracht und sofort verarbeitet, um etwaige Verluste durch die Welkungsvorgänge oder durch Oxydation soweit als möglich auszuschließen.

a) Wildfrüchte u. Beeren.

Die für die Kochauszüge (Herstellung s. S. 6) erhaltenen Reduktionswerte sind, umgerechnet auf 10 gr. Ausgangsmaterial in ccm. n/1000 Farblösung angegeben. Wurde die Nitrobenzolmethode angewandt (s. S. 7), so hat der Reduktionswert einen(*).

Name	Äußere Beschaffenheit	n/1000 Farbstoffverbrauch für 10 gr.
GYMNOSPERMAE.		
Wacholder	unreife, grüne Beeren	0 ccm
(Juniperus communis)	reife, blaue Beeren	0 „
ANGIOSPERMAE.		
Mehlbeere	reife, leuchtend	
(Crataegus monogyna)	rote Beeren	28 * ccm.
Holunder, schwarz	schwarze, überreife	
(Sambucus nigra)	Beeren aus dem Wald	14 * ccm.
Holunder, rot	reife, rote Beeren	
(Sambucus racemosa)		44 * ccm.
Holzapfel	fast reife Äpfel	
(Pirus malus Urform)		7 * ccm.
Wein, wilder	große, grüne, unreife	
(Ampelopsis quinquefolia)	Beeren	6 * ccm.
Liguster	fast reife, schwarze	
(Ligustrum vulgare)	Beeren	14 * ccm.
Vogelbeere	rote, reife Beeren	
(Sorbus aucuparia)		52 * ccm.
Schlehen	reife, schwarzblaue	
(Mespilus monogyna)	Früchte	15 * ccm

Von den hier aufgeführten Wildfrüchten sind in unserem Institut Wacholder, Vogelbeere, Holunder und Mehlbeere bereits früher schon einmal untersucht worden. Nur wurde damals alles Material, das einer Prüfung unterzogen werden sollte, mit 1%iger Schwefelsäure ausgezogen. Da bei dieser Arbeitsweise die Reduktionswerte durch hydrolytische Vorgänge meist erhöht werden, war es von Interesse, auch die Reduktionswerte zu bestimmen, die sich mit Hilfe der neuen Essigsäureextraktion ergeben.

Ein Vergleich der früheren mit den neuen Werten zeigt uns, daß z. B. das von H. Nink (14) bei Wacholderbeeren gefundene Reduktionsvermögen scheinbar überhaupt nicht auf Ascorbinsäure beruht, denn wir konnten gar keine Farbstoff-Reduktion bekommen. Es muß daraus geschlossen werden, daß sich mit Schwefelsäure erst reduzierende Stoffe hydrolytisch bilden.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei der Mehlbeere und den schwarzen Holunderbeeren, die J. Jackisch (15) bereits behandelt hat und bei der Vogelbeere, von der sich ein Reduktionswert in einer Tabelle der H. Stammler'schen (12) Arbeit findet.

Bei diesen drei Arten konnten auch mit essigsaurer Extraktion Reduktionswerte erhalten werden, nur sind unsere Werte stets etwas niedriger. So gibt J. Jackisch (15) für die Mehlbeere (Crataegus monogyna) 32 ccm. n/1000 Farblösungsverbrauch an, wir fanden nur 28 ccm., bei der schwarzen Holunderbeere ist die Differenz wesentlich größer. (74:14 ccm.). Bei dem Stammler'schen Wert für die Vogelbeere (63 ccm.) und unserem (52 ccm.) ist der Unterschied wieder kleiner.

Auf Grund dieses Vergleichs, liegt nun der Schluß sehr nahe, daß bei der Mehlbeere und Vogelbeere keine oder nur eine kleine Hydrolyse vorliegt; denn die Werte liegen größenmäßig ziemlich beieinander und die Unterschiede können sich auch aus verschiedenen Reifestadien herleiten. Anders ist hingegen die Differenz der Werte beim Holunder anzusehen. Hier muß wohl mit einer Hydrolyse durch die Schwefelsäure gerechnet werden.

b) Blätter und Nadeln.

Die angeführten Werte beziehen sich auf 10 gr. Ausgangs-Material und wurden alle durch direkte Titration erhalten.

Name	Äußere Beschaffenheit	n/1000 Farbstoffeverbrauch für 10 Gramm.
PTERIDOPHYTA.		
Adlerfarn (Pteridium aquilinum)	Fiederblätter	0 ccm.
ANGIOSPERMAE.		
Robinie (Robinia pseudacacia)	Blätter	239 ccm.
Buche (Fagus silvatica)	„	158 „
Eiche (Quercus pedunculata)	„	104 „
Walnuß (Juglans regia)	„	1350 „
Birke (Betula verrucosa)	„	250 „
Himbeere (Rubus idaeus)	„ a. d. Garten	250 „
Johannisbeere (Rubus rubrum)	„ „	440 „
Stachelbeere (Ribes grossularia)	„ „	370 „
Erdbeere (Fragaria)	„ „	140 „
Walderdbeere (Fragaria colina)	„ a. d. Wald	0 „
Brombeere (Rubus fruticosus)	„ „	120 „
Kartoffel (Solanum tuberosum)	Blätter	70 „
Liguster (Ligustrum vulgare)	„	95 „
Holunder, schw. (Sambucus nigra)	„	270 „
Iris (Iris germanica)	„	350 „
GYMNOSPERMAE.		
Wacholder (Juniperus communis)	Nadeln	50 ccm.
Lärche (Larix europaea)	„ junger Baum	95 „
Rottanne oder	„ „ „	43 „
Fichte (Picea excelsa)	„ alter „	18 „
Weymouthskiefer (Pinus strobus)	Nadeln	26 „
Kiefer (Pinus silvestris)	„	8 „

Von den in dieser Tabelle angeführten Blättern und Nadeln sind bisher nur Iris und Tanne näher erforscht und hierbei wurde der Nachweis erbracht, daß ihr Reduktionsvermögen durch die Ascorbinsäure bedingt ist.

Bei Iris ist E. J. Baumann und N. Metzger (16) die Reindarstellung der Ascorbinsäure gelungen. Die russischen Forscher: N. Schepilewskaja, N. J. Griasnow und E. N. Alexejewa-Rukina (17) aus der Vitaminabteilung des zentralen wissenschaftlichen Instituts für Volksernährung in Moskau und eines Filialinstituts konnten die antiscorbutische Wirksamkeit der Tannennadeln in ausgedehnten Tierversuchen nachweisen. Sie geben als Minimaldosis für Meerschweinchen eine Extraktmenge an, die etwa 2—3 gr. Tannennadeln entspricht. Setzt man diese Menge in Beziehung zu dem von uns gefundenen Reduktionswert und zu den Minimaldosen, die bei uns (s. S. 18) auf diese Grundlage bestimmt worden sind, so ergibt sich größenordnungsmäßig eine recht gute Übereinstimmung, zumal wenn man die

Schwankungen berücksichtigt, die durch Standort und Jahreszeitenwechsel auftreten können und auf die F. V. v. Hahn (18) hinweist. Nach seinen Versuchen ist die antiscorbutische Aktivität der Tannennadeln in den Sommer- und Herbstmonaten niedriger und steigt von Mitte November ab an.

Ähnlichen Untersuchungen, an den Birkenblättern, ist das Kapitel IV. d auf S. 21 dieser Arbeit gewidmet.

c) Hölzer und Rinden.

Ebenso wie vorher bei den Früchten und Blättern wurden auch Holz und Rinde verschiedener Bäume auf vorhandenes Reduktionsvermögen hin untersucht, wobei beide getrennt behandelt wurden.

Hierbei wurde jeweils eine Versuchsreihe derart angelegt, daß man von der Rinde einen 1%ig essigsauren Kochauszug, einen wässrigen Kochauszug und einen 1%ig schwefelsauren Kochauszug herstellte. Dann wurden von der Rinde mit den gleichen Lösungen durch 24stündige kalte Extraktion drei weitere Auszüge hergestellt. Dieselben sechs Auszüge wurden vom Holz, das von der Rinde befreit wurde, gemacht. Somit hatte man insgesamt zwölf verschiedene Auszüge.

Alle diese Auszüge titrierten nichts, abgesehen von wenigen Tropfen Farblösung die verbraucht wurden, um die Lösungen anzufärben; ein Verbrauch der immer nötig ist, auch wenn es sich um Auszüge handelt, die keine Ascorbinsäure enthalten.

Untersucht wurden die Hölzer von Buche, Birke, Eiche, Lärche, Kiefer, Weymouthskiefer und Tanne. Es scheint hiermit erwiesen zu sein, daß sich in Holz oder Rinde selbst solcher Bäume, deren Blätter durch einen besonders hohen Ascorbinsäuregehalt ausgezeichnet sind, (z. B. die Birke), kein Reduktionsvermögen vorfindet.

Das Reduktionsvermögen der Birkenblätter.

a) Versuch der Isolierung des reduzierenden Körpers.

Noch ehe die in dem vorhergehenden Abschnitt beschriebenen Arbeiten abgeschlossen waren, wurde der reduzierende Körper der Birkenblätter näher untersucht. Zunächst galt es, ihn in seinen Reaktionen mit der Ascorbinsäure zu vergleichen, dann aber verlockte es auch, da ja das Ausgangsmaterial leicht erreichbar war, die Reindarstellung des reduzierenden Körpers der Birkenblätter zu versuchen.

Ein Vorversuch bestand zum Beispiel darin, daß man festzustellen suchte, ob sich das Reduktionsvermögen unseres Extraktes mit dem von

Zitronensaft addiert. Man geht so vor, daß man Flüssigkeitsmengen, die 100 ccm. Reduktionsvermögen entsprechen, zusammengießt und nach einstündigem Stehen unter Stickstoff dann titriert. Das Ergebnis war bei unserem Birkenblätterauszug völlig befriedigend, die Reduktionsvermögen addierten sich.

Auch die von H. Baier (8) vorgeschlagene Titration mit dem zur Oxazin-Gruppe gehörigen Prune-Farbstoff (Summenformel $C_{16}H_{15}N_2O_5Cl$) kann zur Bestimmung von Ascorbinsäure herangezogen werden. Bei der Durchführung mit unserem Extrakt waren die Werte aber nicht so genau, wie es die Baier'schen Ausführungen erwarten ließen. Es wurde deshalb den Werten der Titration mit 2,6-Dichlorphenol-Indophenol der Vorzug gegeben.

Nach diesen Vorversuchen, die auf das Vorhandensein von Ascorbinsäure schließen ließen, mußten unsere Auszüge, um eine Erfolg versprechende Reindarstellung in die Wege zu leiten, zunächst einmal eingeengt werden. Um hierbei möglichst wenig an Reduktionsvermögen zu verlieren, wurden die essigsauren Auszüge im Vacuum in einem Wasserbad von etwa 70 Grad eingedampft. Durch die Siedekapillare wurde, um jeden Zutritt von Luft zu vermeiden, Stickstoff eingeleitet.

Bei dieser Arbeitsweise betrug der Verlust an Reduktionsvermögen rund 10%, was wohl darin begründet ist, daß bei der Einengung im Vakuum ein Teil der in den Auszügen befindlichen Essigsäure abdestilliert. Das p_H des Extraktes, das im Anfang 4—5 war, wird hierbei nach dem Neutralpunkt zu verschoben und somit die große Oxydationsempfindlichkeit des reduzierenden Körpers noch erhöht.

Nachdem nun solch ein eingeengter Extrakt hergestellt war, galt es, ihn beim Aufbewahren vor weiteren Verlusten an Reduktionsvermögen möglichst zu bewahren. Hier erwies sich die im folgenden beschriebene Arbeitsweise als besonders günstig:

Der Extrakt, der sich in einer braunen Glasflasche befindet, wurde zunächst durch einfaches Einleiten mit Kohlensäure gesättigt. Dann wurde die Flasche mit einem passenden durchbohrten Gummistopfen, durch dessen Bohrung ein Glasrohr mit Hahn führte, verschlossen. Nach der Sättigung wurde nun durch den Hahn so lange Kohlensäure eingeleitet, bis der an der Bombe angebrachte Druckmesser 1/2 Atmosphäre anzeigte, dann der Hahn geschlossen, und die Flasche sofort in den Eisschrank gestellt. So aufbewahrt, waren die Extrakte, unter nur unbedeutendem Nachlassen des Reduktionsvermögens, monatelang haltbar.

Mit einem so hergestellten Birkenblätterextrakt wurden nun, um eine Reinigung zu erzielen, Fällungen vorgenommen, wie sie bei R. Vaubel (4), E. Helm (5) und H. Goldschmidt (6) be-

schrieben sind. Es wurden die saure, neutrale und acetonische Bleifällung in allen denkbaren Abstufungen durchgeführt; ebenso wurde ein Teil des Extraktes im Stickstoff-Vakuum zur Trockne eingedampft, in methanolische Lösung übergeführt und in dieser dann eine Ätherfällung ausgeführt. Um die Reinigungswirkung der einzelnen Fällungen zu prüfen, wurde jedes Mal das scheinbare Äquivalentgewicht festgestellt. Man versteht darunter eine aus Verbrauch an n/1000 Farblösung und Trockensubstanz errechnete Größe, die ein Maßstab für den Reinheitsgrad ist. Alle Reinigungsversuche brachten unbefriedigende Ergebnisse.

Entweder konnte keine Erniedrigung des scheinbaren Äquivalentgewichtes erreicht werden, war aber bei einer abgeänderten Arbeitsweise eine solche einmal gelungen, so war das mit Verlusten an Reduktionsvermögen bis zu 70% verbunden, meist wohl bedingt durch die Adsorption an die oft recht voluminösen Niederschläge, die sich bei den Ausfällungen der Verunreinigungen bildeten, manchmal möglicherweise auch durch Oxydation. Denn selbst bei sorgfältigstem Arbeiten unter Stickstoff, läßt sich ein Luftzutritt nicht immer ganz ausschalten, was sich besonders bei dem Arbeiten in neutraler oder schwach alkalischer Lösung durch Verluste bemerkbar macht.

Da es uns nun darauf ankam, einen sicheren Beweis dafür zu haben, daß das Reduktionsvermögen auf dem Vorliegen von Ascorbinsäure beruht, wurde ein Tierversuch mit Meerschweinchen durchgeführt.

b) Tierversuch.

Der Versuch wird in der Weise durchgeführt, daß man die Tiere zunächst einmal an die geplante Fütterungsweise solange gewöhnt, bis sie eine gleichmäßige Gewichtszunahme zeigen.

Die Eingewöhnung besteht darin, daß man den Tieren die Grundkost und als Vitaminträger Orangen- oder entsäuerten Zitronen-Saft verfüttert.

Die Grundkost besteht in Hafer, Heu und Milch. Der Hafer kommt ohne irgendwelche Vorbehandlung zur Verfütterung. Das Heu wird 2 Stunden im Dampfautoklaven bei 0,2 Athmosphären auf 100 Grad erhitzt und dann an der Luft getrocknet.

Die Milch wird aus Vollmilch-Trockenpulver hergestellt. 125 gr. davon werden in fast kochendem Wasser zu 1 Liter gelöst. Jetzt wird (durch Titration nach Soxhlet-Henkel) der Säuregrad bestimmt und die Milch entsprechend dem gefundenen Wert mit Natronlauge schwach alkalisch gemacht. Durch die noch heiße Milch wird eine Stunde ein kräftiger Luftstrom gesaugt, gleichzeitig kühlt man sie mit fließendem Wasser langsam ab. Dann stellt man mit Salzsäure den alten Säuregrad wieder her. Diese Behandlung ist in der großen

Empfindlichkeit der Ascorbinsäure gegen Luftsauerstoff in alkalischer Lösung begründet. Man kann annehmen, auf diese Art eine sicher ascorbinsäurefreie Milch zu erhalten.

Die Milch wird nun je Liter mit 10 gr. Scott's Lebertran-Emulsion versetzt, um eine ausreichende Versorgung der Tiere mit Vitamin D. zu gewährleisten. Vitamin A. und B. dürften im Hafer in genügender Menge vorhanden sein. An Orangen- oder Zitronensaft genügte 1 ccm. am Tag, dies entspricht meist einem n/1000 Farblösungsverbrauch von 7 ccm. oder 0,616 mg. reiner Ascorbinsäure. Diese Menge reicht, wie frühere Versuche bewiesen haben, aus, um Meerschweinchen vor Scorbut zu schützen.

Zum Hauptversuch nach der Eingewöhnungszeit werden die Tiere in 3 Gruppen zu je 3 eingeteilt. Von unserem Birkenblätterextrakt erhielten dann die Tiere täglich eine Menge, die einem Reduktionsvermögen von 7,14 und 21 ccm. gegenüber unserer Farblösung entspricht. Wenn die gesamte Reduktion auf Ascorbinsäure beruhte, so mußte schon die kleinste Dosis genügen, um die Tiere vor Scorbut zu schützen. Daneben werden noch 2 positive Kontrolltiere, die an Stelle von Extrakt weiter

Gewicht der Tiere von 5 zu 5 Tagen.

Gruppe	Tier Nr.	1	5	10	15	20	25	30	35	40
I.	1.	229	238	256	276	290	297	324	320	350
	2.	224	239	254	272	278	301	308	311	311
	3.	227	241	244	254	252	268	281	286	304
II.	4.	209	208	224	238	246	256	270	266	294
	5.	208	218	214	237	233	249	254	273	296
	6.	216	216	242	249	257	285	300	320	344
III.	7.	219	225	232	248	247	252	268	254	281
	8.	212	217	216	236	252	260	274	272	297
	9.	226	236	237	244	268	278	280	295	310
positive Kontrolltiere	10.	190	184	188	206	220	226	242	248	276
	11.	157	156	164	184	210	228	236	230	249
negative Kontrolltiere	12.	220	216	222	194	} Die beiden Tiere starben gleichzeitig in der Nacht v. 15. z. 16. Versuchstag.				
	13.	213	215	202	172					

Orangensaft erhalten und 2 negative Kontrolltiere, die nur die Grundkost bekommen, zu Vergleichszwecken gehalten.

Die Fütterung selbst wird folgendermaßen durchgeführt. Jeden Morgen werden die Tiere zunächst gewogen, dann erhalten sie ihre tägliche Menge Heu, etwa 25 gr. Sie wird deshalb zuerst gegeben, weil hierdurch der Durst der Tiere erhöht wird und sie dann ihre Extraktmenge schnell trinken. Etwa ½ Stunde nach der Heufütterung gibt man, mit 5 ccm. der vorbehandelten Milch vermischt, jedem Tier seine C-Vitamin-Dosis. Haben sie diese getrunken, so erhalten sie je eine Hand voll Hafer und 50 ccm. der vorbehandelten Milch. Im Laufe des Versuchs kann an die größer werdenden Tiere dann bis zu 100 ccm. dieser Milch gegeben werden, nur ist darauf zu achten, daß bis abends alle Milch ausgetrunken ist, denn nachts soll den Tieren keine Gelegenheit zum Trinken gegeben werden, damit sie morgens auch den nötigen Durst haben. Der Versuch wurde 80 Tage durchgeführt, dann aber, nachdem die negativen Kontrolltiere am 15. Versuchstage gestorben waren und alle übrigen einen gleichmäßig gesunden Eindruck machten, abgebrochen.

Die Gewichtsverhältnisse sind aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Versuchstage.

45	50	55	60	65	70	75	80	Gesamtzunahme in Gramm
344	348	358	378	387	382	411	429	200
365	378	382	398	418	452	452	460	236
326	345	370	382	420	429	430	458	231
309	334	350	360	370	403	420	430	221
317	333	367	370	400	414	430	442	234
379	399	434	435	446	500	530	546	330
298	322	336	324	330	378	395	417	198
394	314	328	340	336	347	326	364	152
327	344	362	370	367	386	396	410	184
280	289	296	312	332	338	348	357	167
255	263	277	308	330	340	349	358	201

—26

—41

Gruppe I erhielt: Eine Extraktmenge, die einem Reduktionsvermögen von 7 ccm. Farblösung entspricht.

Gruppe II erhielt: Eine Extraktmenge, die einem Reduktionsvermögen von 14 ccm. Farblösung entspricht.

Gruppe III erhielt: Eine Extraktmenge, die einem Reduktionsvermögen von 21 ccm. Farblösung entspricht.

Die positiven Kontrolltiere erhielten: täglich 2 ccm. Orangensaft.
Die negativen Kontrolltiere erhielten: nur die Grundkost.

Krankheitserscheinungen der negativen Kontrolltiere.

Bis etwa zum 10. Versuchstage konnte gegenüber den anderen Tieren kein besonderer Unterschied festgestellt werden. Dann aber begannen, verbunden mit starker Gewichtsabnahme, sich deutliche Krankheitserscheinungen einzustellen. Außer der erwähnten Abmagerung, wurde das Fell struppig, die Schenkel zeigten Lähmungserscheinungen, Druck auf die Kniegelenke schien schmerzhaft, zuletzt saßen die Tiere völlig teilnahmlos in einer Ecke des Käfigs.

Sektionsbefunde von Tier Nr. 12 und Tier Nr. 13: Bei beiden Tieren wurden Blutungen in den Kniegelenken des Oberschenkels und zum Teil auch in der Muskulatur des Brustkorbs festgestellt. Die Knochen waren mit einer Schere äußerst leicht zu durchschneiden, die Kiefer waren bei gelockerten Zähnen brüchig, die Gallenblase erschien übermäßig stark geschwollen. Der Befund war typisch für Meerschweinchenscorbut.

Nach Beendigung des Versuchs nach 80 Tagen, wurde, da alle Tiere gleich gesund erschienen, aus der Gruppe I, die die kleinste Dosis erhalten hatte, das Tier (Nr. 3) mit der mittleren durchschnittlichen Gewichtszunahme (231 gr.) getötet und seziert. Der Befund war bei diesem Tier nach jeder Richtung hin normal.

Dieser Tierversuch war in seinem Ergebnis völlig befriedigend und zeigt uns, daß bereits die Verfütterung einer Extraktmenge, die einem Reduktionsvermögen von 7 ccm. unserer n/1000 Farbstofflösung entspricht, ausreicht, um vor Scorbut zu schützen.

Versuche mit reiner Ascorbinsäure, die in unsrem Institut früher von R. Vaubel (4) durchgeführt worden sind, ergaben, daß 0,5 mg. täglich ausreichten, um die Tiere vor Scorbut zu schützen.

Da nun 1 ccm. n/1000 Farbstofflösung einer Ascorbinsäuremenge von 0,088 mg. entspricht, so errechnet sich für die 7 ccm.-Dosis unseres Birkenextraktes eine Menge von 0,616 mg. Da auch diese ausreichend für unsere Meerschweinchen war und da die beiden Werte so nahe beieinander liegen, ist der Schluß wohl gerechtfertigt, daß das gesamte Reduktionsvermögen der Birkenblätter von der Ascorbinsäure herrührt.

Erwähnen möchte ich in diesem Zusammenhang hier nur kurz, daß in dem neuzeitlichen Kräuterbuch von L. Kröber (7), der auf Grund alter Volksüberlieferungen Heilkräuter zusammengestellt hat, mit der Angabe, für welche Krankheiten diese dem Volksglauben nach Heilkraft besitzen sollten, auch die Birkenblätter als Scorbut-Gegenmittel angeführt sind. Ohne also die Ursache zu kennen, worauf die Heilwirkung beruht, hat man, wie so oft, richtigerweise ein Ascorbinsäureführendes Material schon in alter Zeit als Heilmittel benützt.

c) Der Einfluß von Licht und geänderten Atmungs- und Assimilationsverhältnissen auf die Ascorbinsäure.

Nachdem durch den oben beschriebenen Tierversuch bewiesen war, daß es sich bei dem in den Blättern der Birke vorhandenen Reduktionsvermögen um die Ascorbinsäure handelt, versuchten wir im weiteren Verlauf der Arbeit festzustellen, ob die Vermehrung der Ascorbinsäure beim Älter- bezw. Größerwerden der Blätter mit der Atmung oder der Assimilation zusammenhängt. Die hierzu notwendigen Versuche wurden jeweils so geändert, daß einmal die Atmung der Blätter zum anderen die Assimilation, dann wiederum beide Lebensvorgänge gehemmt werden sollten. Wir versuchten dies dadurch zu erreichen, daß wir die Zweige mit den Blättern bzw. Knospen unter Stickstoff bezw. Kohlensäure oder aber auch im Dunkeln stehen ließen.

Da durch Titration festgestellt war, daß schon in den allerersten kleinsten Blättchen im Frühjahr Ascorbinsäure enthalten ist, (für 10 gr. = 150 bis 180 ccm. Farblösung), ja sogar auch schon in den von der äußeren Schale erst befreiten, noch geschlossenen, braunen Knöspchen, (für 10 gr. = 70 ccm. Farblösung), wurden folgende Prüfungen vorgenommen:

1) Einige Birkenzweige mit noch geschlossenen Knospen, die aber kurz vor dem Aufbrechen stehen, wurden abgeschnitten und nachdem auf diese Art die Saftzufuhr aus dem Stamm ausgeschaltet ist, in einem Stutzen mit Wasser in die Dunkelkammer gestellt, um auch die Lichteinflüsse auszuschalten. Ein paar andere ebensolche Zweige wurden in Wasser an das helle Fenster gestellt, um auch die Gegenprobe zu haben. Das Wasser wurde täglich gewechselt.

Nach drei Tagen waren an den Zweigen kleine Blättchen, die wie üblich extrahiert wurden und ein Reduktionsvermögen von 72 ccm. für 10 gr. ergaben. Die Zweige in der Dunkelkammer mußten 7 Tage stehen, um Blättchen gleicher Größe, wie an den Zweigen vom Fenster, auszubilden. Reduktionsvermögen für 10 gr. = 24 ccm.

2) Zweige mit am Baum ausgebildeten kleinsten Blättchen (Reduktionsvermögen für 10 gr. = 180 ccm.) werden wie unter 1) behandelt. Nach 3tägigem Stehen war das Reduktionsvermögen für die Blätter der Zweige vom Fenster für 10 gr. = 124 ccm., für die aus der Dunkelkammer nach ebenfalls 3 Tagen für 10 gr. = 106 ccm. Diese Blättchen waren nicht mehr so kräftig und frisch hellgrün, sondern etwas blasser und gelblicher.

3) Zweige wurden in Wasser bei täglichem Wasserwechsel vor das Fenster gestellt, um auch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen, die ja teilweise vom Fensterglas zurückgehalten werden, zu ermöglichen. Nach 2 Tagen war das Reduktionsvermögen für 10 gr. von 180 ccm. auf 166 ccm. gefallen. Danach fand von Tag zu Tag eine weitere Abnahme statt und nach 7 Tagen war das Reduktionsvermögen restlos verschwunden. Die Blätter waren bereits schlaff und leicht gewelkt.

Das täglich abgegossene Wasser wurde jedesmal titriert. Es zeigte niemals Reduktionsvermögen.

Zwei weitere Versuche, die Atmung und Assimilation beeinflussen sollten, wurden folgendermaßen angeordnet. Eine weithalsige, hohe, mit Schliff versehene 5 Liter-Flasche wurde mit einem Aufsatz, der zwei Glashähne trug, verschlossen. An dem einen Hahn war nach innen zu ein Glasrohr angeschmolzen, das bis zum Boden reichte. In diese Flasche wurden nun Zweige mit kleinen Blättchen in Wasser eingestellt, dann kam der beschriebene Aufsatz darauf und nun wurde ohne Wasserwechsel 2 Tage und Nächte lang durch den mit dem Rohr verbundenen Hahn Stickstoff eingeleitet. Er perlte durch das Wasser, in dem die Zweige standen und konnte dann aus dem anderen Hahn entweichen. Ein anderes Mal wurde unter gleichen Bedingungen ein luftfreier Kohlensäure-Strom durchgeleitet.

Nach einem Tag waren äußerlich keine mit dem Auge wahrnehmbaren Veränderungen zu erkennen, die Blätter waren lediglich ein wenig gewachsen.

Am Ende des 2. Tages hingegen war eine deutliche Verfärbung nach gelb hin zu beobachten, außerdem fiel noch auf, daß sich die Blätter in der Stickstoffatmosphäre in einer ganz eigenen Weise in Richtung zu ihrer Längsrippe zusammengefaltet hatten. Das ursprüngliche Reduktionsvermögen von 180 ccm. war bei Stickstoff auf 112 ccm., bei

Kohlensäure auf 70 ccm. abgefallen. Das Wasser titrierte in beiden Fällen nichts.

Diese Versuche brachten demnach nichts überraschendes. In allen Fällen wurde eine mehr oder minder große und schnelle Abnahme des Reduktionsvermögens gefunden, die aber auch eintritt, wenn man die Blätter an den Zweigen verwelken läßt, ohne sie in Wasser zu stellen, oder wenn man die im Herbst vom Baum abgefallenen Blätter prüft. Da also die von den normalen Welkungsvorgängen abweichenden Versuchsanordnungen keine Besonderheiten ergaben, spielen hier anscheinend Atmung und Assimilation keine Rolle.

d) Verhalten des Reduktionsvermögens im Wechsel der Jahreszeiten und der Witterung.

Um einen Einblick zu gewinnen, wie sich das Reduktionsvermögen gegen Jahreszeiten und Witterungseinflüsse verhält, Reduktionsvermögens-Schwankungen waren festgestellt, wurde über ein ganzes Jahr hinaus an ein und demselben Baum das Reduktionsvermögen laufend geprüft. Begonnen wurde am 19. September 1934 und die Untersuchungen dann bis zum Blätterfall im Oktober 1935 fortgesetzt.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zu finden:

Datum	Wetter	R-V. für 10 gr. i. ccm. Farbl.	Material
19. 9. 34	schöner heißer Tag nach kalter Nacht	227	Blätter
3. 10. 34	schöner sonniger Herbsttag	236	„
10. 4. 35	trüber warmer Frühlingstag	70	Knospen
12. 4. 35	trüber bedeckter Himmel, schön warm	180	allererste kleinste Blättchen
15. 4. 35	trübes Wetter nach zwei Tage dauerndem Regen	150	kleinste Blättchen
23. 4. 35	strahlend schöner Tag, nachdem es schon 4 Tage sonnig und warm gewesen war	180	Blätter
8. 5. 35	trübe, kurz vor starkem Gewitter	236	„
9. 5. 35	morgens nach dem Gewitter, noch trübe und windig	190	„
28. 5. 35	schönes warmes sonniges Wetter	330	„
10. 6. 35	nach wechselndem Wetter, nicht sehr warm	240	„
17. 6. 35	nach 2 Tage regnerischem stürmischem Wetter	180	„
20. 6. 35	weiter ausgesprochen schlechtes Wetter. Trübe und Regen	160	„

Datum	Wetter	R-V. für 10 gr. i. ccm. Farbl.	Material
1. 7. 35	nach einer Schönwetterperiode von über 8 Tagen mit Temperaturen von 38 Grad im Schatten	240	Blätter
3. 7. 35	Gewitterstimmung, sehr schwül	280	„
4. 7. 35	trübe, windig, noch gewittrig, stark abgekühlt	230	„
5. 7. 35	windig, trübe, wieder wärmer	250	„
20. 7. 35	schönes warmes Sommerwetter	290	„
7. 8. 35	sonniges heißes Sommerwetter	300	„
27. 8. 35	trübe, regnerisch, kühl	140	„
10. 9. 35	schönes sonniges Herbstwetter	300	„
13. 9. 35	schönes sonniges Wetter. Kalte Nächte. + 2 Grad	250	„
30. 9. 35	bedeckter Himmel, aber sonst schön	225	„
9. 10. 35	trübe, doch nicht gerade kühl	195	„

Blätter, die später als Mitte Oktober 1935 abgemacht waren, hatten sich schon stark verfärbt und hafteten nur noch locker an den Zweigen. Ihre Funktionen für die Pflanze waren anscheinend schon abgestorben. Ein Reduktionsvermögen fand sich in gelb gewordenen Blättern nicht mehr, wie erwarteterweise abgefallene Blätter ebenfalls keinerlei Reduktionsvermögen mehr zeigten.

Auffallend ist der starke Sprung des Reduktionsvermögens (70 : 180) von den kleinsten Blättchen bis zu der Knospe (10. 4. 1935 bis 12. 4. 1935). siehe auch Tabelle.

Unsere anderen Prüfungen ergaben weiterhin ebenfalls immer wieder, daß die Hauptmenge an Ascorbinsäure in den Blättern innerhalb weniger Tage gebildet wird.

Wie aus der Tabelle deutlich ersichtlich, besteht auch ein unbedingter Zusammenhang zwischen Wetter und Reduktionsvermögen. Regenperioden bei kühlem Wetter (siehe Tabelle 28. 5. 35 — 20. 6. 35) setzen ebenso wie Gewitter (siehe Tabelle 8. bis 9. 5. 35 und 3. bis 4. 7. 35) das Reduktionsvermögen beträchtlich herab, während schönes warmes sonniges Wetter einen Anstieg des Reduktionsvermögens zur Folge hat. Eine Prüfung an einem sehr sonnigen Tag auf Unterschiede zwischen stark bestrahlten Blättern und solchen im Schatten vom gleichen Baum ergaben keine Unterschiede.

Wie diese Ausführungen erkennen lassen, darf man also die Angabe des Reduktionsvermögens eines pflanzlichen Materials nicht als

unbedingt bindend für jede Zeit ansehen, sondern man muß, wenn genauere Werte benötigt werden, zu verschiedenen Jahreszeiten und Wetterperioden das Reduktionsvermögen prüfen, wobei voraussichtlich nach einer längeren Schönwetterlage mit viel Sonne die höchsten Werte gefunden werden.

e) Untersuchung des Birkensaftes.

Im Rahmen der Untersuchungen an der Birke, wurde auch einmal der Saft auf Reduktionsvermögen hin geprüft und zwar einmal in der Saftsteigezeit, bevor noch Blätter gebildet waren, dann auch nachher noch ein paar Mal.

Die Saftentnahme geschah in der Weise, daß die Rinde entfernt wurde, dann wurde mit einem rostfreien Messer die saftführende Schicht angeschnitten. Die austretenden Tropfen wurden sofort in einem Gläschen aufgefangen, in dem mittels Marmorstückchen und Essigsäure eine Kohlensäure-Atmosphäre geschaffen wurde, um eine Luftsauerstoffeinwirkung auszuschalten. Der Saft reagierte gegen Lackmus neutral und war hellgelb gefärbt. Zu keinem Zeitpunkt konnte Reduktionsvermögen festgestellt werden.

f) Untersuchungen über den Sitz der Ascorbinsäure in den Blättern.

1) Behandlung mit Silbernitrat.

Nachdem feststand, daß sich in den Birkenblättern Ascorbinsäure vorfindet, war es sehr interessant zu wissen, wo sie nun vorkommt, ob gleichmäßig überall verteilt oder vielleicht an besonderen Stellen mehr oder weniger angehäuft. Ausgehend von einer der markantesten Eigenschaften der Ascorbinsäure, nämlich der Reduktion von Silbernitrat in saurer Lösung zu metallischem Silber, wurde als Vorversuch ein Birkenblatt in eine essigsaure 5%ige Silbernitratlösung eingelegt; schon nach wenigen Minuten waren mit unbewaffneten Augen viele kleinste schwarze Pünktchen vorwiegend auf der Blattunterseite zu erkennen. Je länger man das Blatt liegen läßt, desto intensiver wird die Schwärzung, was wohl auch mit der Lichteinwirkung zusammenhängt. Legt man nun ein derart behandeltes Blatt unter das Mikroskop, so stellt man die erstaunliche Tatsache fest, daß die schwarzen Punkte immer nur im Inneren der Drüsenschuppen liegen. Der Schluß liegt also nahe, daß sich Ascorbinsäure in den Drüsen findet. Um dieses sicher zu stellen, wurde unter verfeinerten Versuchsbedingungen gearbeitet: In der Dunkelkammer wurden Birkenblätter mit 1%iger, 5%iger und 10%iger Silbernitratlösung, die jeweils 1%ig essigsauer war, 1/4 Stunde lang behandelt und zwar, indem ein Mal die ganzen Blätter in der Lösung gebadet wurden,

das andere Mal nur die Blattstiele eintauchten. Danach wurden die Blätter mit Wasser gut abgewaschen und nun erst wieder ans Licht und unter das Mikroskop gebracht.

Die gebadeten Blätter zeigten wieder die intensive Schwarzfärbung des Drüseninneren und zwar bei allen 3 Konzentrationen annähernd gleich: Die nur mit den Stielen eingestellten Blätter hatten nach 1/4 Stunde erst eine braune bis schwarzbraune Drüsenfärbung, dehnte man den Versuch aber 1/2 bis 3/4 Stunde aus, war das mikroskopische Bild wieder das gleiche. Die Blattadern waren zu diesem Zeitpunkt noch nicht gefärbt, was darauf hindeutet, daß die reduzierende Substanz scheinbar in erster Linie in den Drüsen angereichert ist. Noch augenfälliger wird das Bild, wenn man ein unbehandeltes Blatt unter das Mikroskop bringt und nun eine 5% ige Silbernitratlösung (1% ig essigsauer) darauf tropft. Bei der Beobachtung sieht man jetzt schon nach 2 bis 3 Minuten wie sich in der Mitte jeder Schuppe ein dunkler Punkt ausbildet, der langsam wächst und von dunkelbraun in schwarz übergeht.

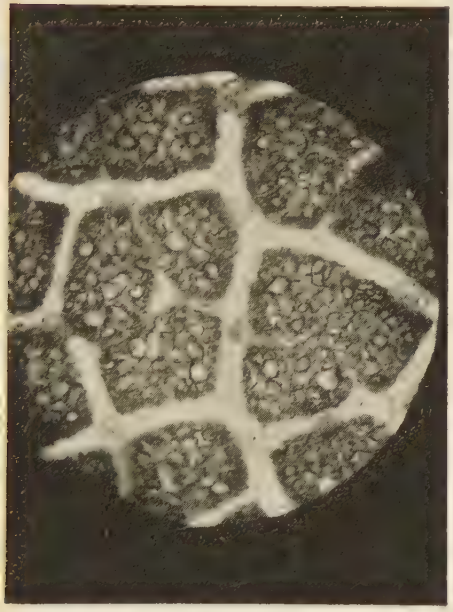
Um ganz sicher zu gehen, daß sich die Reduktion der Silbernitratlösung und das Reduktionsvermögen der Blätterdrüsen in Zusammenhang befinden, wurden 2 Versuche durchgeführt, die den Beweis dafür erbrachten.

Es wurden bei täglichem Wasserwechsel Birkenzweige 7 Tage in die Dunkelkammer gestellt. Danach hatten die Blätter alles Reduktionsvermögen gegen unseren Farbstoff verloren, waren aber äußerlich noch recht frisch, abgesehen von einer Farbverblassung. Mit diesen Blättern wurde nun unser Silbernitratversuch wiederholt. Schon makroskopisch waren die bei frischen Blättern erkennbaren schwarzen Punkte nicht zu sehen und auch unter dem Mikroskop konnte keinerlei Schwärzung festgestellt werden. Silbernitratbehandlung bis zu 5 Stunden am Licht verlief ebenfalls negativ. An der Luft 3 Tage getrocknete Blätter wurden als zweite Prüfung, so geschrumpft wie sie waren, in konzentrierte Silbernitratlösung gelegt, bis sie sich wieder erweicht hatten. Auch hier konnte keine Schwärzung der Drüsenschuppen festgestellt werden.

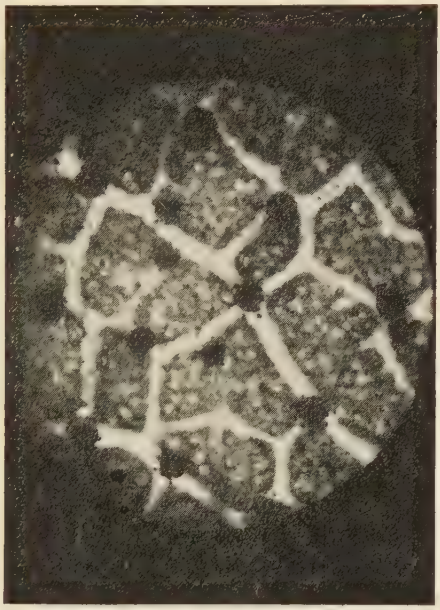
Das Ergebnis ist also die neue Tatsache, daß die Drüsenschuppen bei den Birkenblättern eine starke Reduktionswirkung zeigen. Da diese nun mit Ascorbinsäure gleichzusetzen ist, wie ja der Tierversuch gezeigt hatte, so gelangt man zu dem Schluß, daß sich vorwiegend an diesen Blattstellen ein großer Teil der Ascorbinsäure befindet.

Ob sich nun die gesamte Menge in den Drüsen befindet, kann nicht so ohne weiteres behauptet werden, denn bei länger dauernder Einwirkung von Silbernitrat und Licht (über 30 Minuten) schwärzen sich auch andere Teile des Blattes, z. B. die Blattadern, andererseits muß man auch annehmen, daß hierbei dann außerdem noch andere organische

Stoffe eine Schwärzung bedingen werden. Jedenfalls wurden unsere Befunde am Birkenblatt in vielen Untersuchungen an anderem Blattmaterial bestätigt, worüber später noch eingehend berichtet wird.



Mikro-Aufnahme
der Drüsenschuppen eines unbehandelten Birkenblattes.



Mikro-Aufnahme
der durch Reduktion von Silbernitratlösung geschwärzten Drüsenschuppen.

Ganz so überraschend, wie es im ersten Augenblick erscheint, ist jedoch dieses Untersuchungsergebnis nicht, wenn man sich vergegenwärtigt, daß ja auch im tierischen Körper die drüsenartigen Organe (Leber, Niere, Nebennierenrinde) die Ascorbinsäure reichlich enthalten, was unter anderen, auch die französischen Forscher A. Giroud und C. P. Leblond (19) vom histologischen Laboratorium der medizinischen Fakultät in Paris durch ihre Arbeiten bestätigt fanden.

Es soll damit natürlich keine funktionelle Ähnlichkeit der tierischen mit den pflanzlichen Drüsen festgestellt werden, die ja bekanntlich in jeder Beziehung völlig verschieden sind, sondern es ist nur als Hinweis gedacht, daß sowohl im Tier wie in der Pflanze manchmal in sehr ähnlicher Form gleiche Produkte gebildet werden.

2) Behandlung mit: 2,6-Dichlorphenol-Indophenol.

Die nächste Folgerung aus diesen Befunden war die direkte Behandlung des Blattes mit unserem Farbstoff. Es wurde dazu eine recht konzentrierte Lösung in der Weise angewandt, daß ein viereckiges Stückchen aus dem Blatt ausgeschnitten wurde, es kam auf einen Objektträger unter das Mikroskop und wurde nun mit dem Farbstoff übergossen. Dieser konnte, infolge der Schnittränder, von allen Seiten schnell in das Blattgewebe eindringen. Beim Beobachten zeigte sich jetzt ein sehr spannendes Bild. Das ganze Gewebe wurde zuerst schnell einheitlich blau bis rotblau, bald aber traten an den Stellen, an denen sich die Drüsenschuppen befinden, helle runde Punkte auf, die sich wie Sterne von der dunkelblauen Umgebung abhoben. Ein erneuter Beweis also dafür, daß die Drüsen reduzieren. War ihre Reduktionskraft erschöpft, so lagerte sich, von dem ja im Überschuß vorhandenen Farbstoff, ein Kranz am Rande der Drüse ab.

Die Ausführung dieses Versuches erforderte eine gewisse Arbeitstechnik, die man erst bei längerer Übung erlernt. Wählt man nämlich die Farblösung zu konzentriert, so überdeckt sie tiefblau das ganze Blattstück und das ins Mikroskop einfallende Licht ist nicht mehr kräftig genug, um Einzelheiten der Blattoberfläche erkennen zu lassen; ist andererseits wiederum die Farblösung zu dünn, so wird die Umgebung der Drüsen nicht dunkel genug und die Entfärbung durch die Drüse kommt nicht zur Geltung. Außerdem spielt auch noch die Dicke des gerade angewandten Blattes eine Rolle. Man muß also von Fall zu Fall die günstigsten Bedingungen erst heraussuchen.

g) Versuche der quantitativen Bestimmung der Ascorbinsäure mittels Silbernitrat.

Da die Silbernitratreduktion von unseren essigsauren Kochauszügen ebenso gegeben wurde, wäre es von Interesse, auf dieser Grundlage eine quantitative Methode zur Erfassung des ausgeschiedenen Silbers aufzubauen.

Zu diesem Zwecke wurde eine Extraktmenge, deren Reduktionsvermögen gegen unsere Farblösung gemessen war, mit einem Überschuß von n/10 Silbernitrat versetzt. Das reduzierte Silber fiel als Kolloid aus und konnte durch Filtration oder Kochen nicht geklärt bezw. ausgeflockt werden. Auch der Versuch einer Flockung durch Umladung des Kolloids mit zugesetzter Gelatine- oder Agar-Agar-Lösung mißlang.

Schütteln mit Tierkohle und nachfolgende Filtration ergab zwar eine wasserklare Lösung, aber hier wurde nun wieder von der Kohle Silbernitrat verbraucht, also kann auch eine solche Behandlung nicht in

Frage kommen. Das unverbrauchte Silbernitrat konnte also nach den bisher bekanten Bestimmungsmethoden nach Volhard oder Mohr nicht quantitativ erfaßt werden, da die infolge des kolloidalen Silbers dunkelbraun bis schwarzgrau gefärbten Lösungen einen Umschlagspunkt nicht sicher erkennen ließen und das Kolloid auch nicht durch Gewichtsanalyse erfaßt werden konnte.

Auch eine kolorimetrische Bestimmung, die mit einer Lösung reiner Ascorbinsäure, der man zur Kolloidhaltung Gelatinelösung zugesetzt hatte, durchgeführt wurde, mißlang; denn man konnte keinen Endpunkt bestimmen, an dem die dem Reduktionsvermögen entsprechende Menge Silber ausgeschieden worden war, da die Lösungen alle ganz allmählich einen immer tieferen Farbton annahmen, der sich verstärkte, wenn man erst im Dunkeln hatte ausreagieren lassen und dann im Licht den Farbton messen wollte. Daß die Ausflockung der kolloidalen Extrakte auf solche Schwierigkeiten stößt, hängt sicherlich mit der bekannten Tatsache zusammen, daß noch andere Kolloide beigemengt sind, die aus der Blattextraktion stammen und die hier als Schutzkolloide wirken. Da vorerst noch andere Fragen der Aufklärung harrten, wurden die Versuche zur Ausarbeitung einer quantitativen Methode der Bestimmung des ausgeschiedenen Silbers abgebrochen.

V. Zusammenhänge zwischen Reduktionsvermögen und Drüsen bei anderen Blättern.

Unter Drüsen werden hier jetzt nicht nur die ausgesprochenen Drüsenschuppen, sondern zum Beispiel auch die pflanzlichen Haare (Drüsenhaare) sowie die Drüsenzotten, verstanden. Wenn nun im ersten Teil dieser Arbeit in der Hauptsache Wert auf Reduktionsvermögen gelegt wurde, so wurde jetzt, nachdem erkannt war, daß das Reduktionsvermögen in Drüsen vorkommen kann, der umgekehrte Weg beschritten. Dabei wurden einmal Blätter, deren Reduktionsvermögen bekannt war, auf Drüsen hin untersucht, aber auch Blätter, an denen Drüsen gefunden wurden, auf Reduktionsvermögen.

Die mikroskopische Untersuchung von Blättern auf Drüsen.

1) Bei Birkenblättern findet man Drüsenschuppen, die vorwiegend auf den Nerven auftreten. Sie sind kurz gestielt und erscheinen in der Flächenaufsicht schildförmig, aus zahlreichen polygonalen Zellen zusammengesetzt.

2) Bei Himbeerblättern gibt es außer starren spitzen Haaren an der Oberseite auch Drüsenhaare, namentlich auf den Nerven, mit zweizellreihigem Stiel und vielzelligen Köpfchen. Sie treten nur wenig hervor.
3) Erdbeerblätter haben Drüsenhaare mit ein- bis drei-zelligem Stiel und einzelligem Köpfchen.
4) Die Johannisbeerblätter zeigen große gelbe kurzgestielte Drüsen, die in der Flächenansicht scheibenförmig im Querschnitt linsenförmig sind.
5) Das Brombeerblatt hat auf den Nerven an der Blattunterseite Drüsenhaare, die auf einem gekrümmten Stiel, der eins bis zwei Zellreihen hat, ein mehrteiliges Köpfchen tragen.
6) Beim Kartoffelblatt sind auf der Unterseite Drüsenhaare aus einer gebogenen Stielzelle und einem Köpfchen, das aus vier bis sechs Zellen gebildet wird.
7) Holunderblätter tragen auf den Nerven keulenförmige Drüsenhaare mit zwei- bis drei-zelligem Stiel und großem, durch Längs- und Querwände geteiltem Köpfchen in Keulenform.

Diese Blätter, die wir schon früher auf Reduktionsvermögen untersucht hatten (siehe Tabelle S. 10), wurden nun alle der Behandlung mit Silbernitratlösung unterworfen und wieder zeigt es sich, daß es die Drüsen sind, in denen das Reduktionsvermögen sitzt; was besonders schön und deutlich, abgesehen von den Birkenblättern, bei den Johannisbeerblättern zu sehen war, wo die Größe und Anzahl der Drüsen ein sehr anschauliches mikroskopisches Bild ergab. Es steht dies mit dem verhältnismäßig sehr hohen Reduktionswert in guter Übereinstimmung.

Auch die direkte Behandlung von Blattstückchen mit unserer Farbstofflösung bestätigte fast stets die Voraussetzung. Sehr augenfällig ist dies insbesondere bei Vorliegen von Drüsenhaaren, hier sieht man beim Beobachten sehr schön, wie der in das Innere des Haares eindringende blaue Farbstoff solange entfärbt wird, bis das Reduktionsvermögen verbraucht ist.

VI. Walnussblätterdrüsen und Reduktionsvermögen.

In unseren weiteren Untersuchungen, bei denen nun zuerst das Vorhandensein von Drüsen bekannt war, aber noch nicht das Reduktionsvermögen, war in zweierlei Hinsicht das Walnußblatt eine große Überraschung.

a) Das mikroskopische Bild.

Die mikroskopische Prüfung zeigte auf der Blattunterseite zwei Formen von Drüsen. Einmal sieht man Scheibendrüsen, die wie bei den

Labiaten aus radial angeordneten Zellen bestehen und in kleinen Einsenkungen sitzen, sowie dann auch noch Drüsen mit einzelligem Stiel und kugeligem, vierteiligem Köpfchen.

b) Silbernitrat-Behandlung.

Bei der Behandlung mit Silbernitratlösung reduzierte nun nur die zweite Art. Wir haben hier also den Fall, daß bei zweierlei Drüsen an der gleichen Pflanze nur die eine Art Ascorbinsäure enthält. (Der Beweis für solche wurde durch Tierversuch noch erbracht. s. S. 32). Es müssen also nicht unbedingt vorhandene Drüsen auch Reduktionsvermögen haben, sondern es fallen denen, die ein solches nicht besitzen, eben andere Funktionen zu, wie wir ja auch heute noch nicht wissen, was für eine Rolle die Ascorbinsäure im Pflanzenhaushalt spielt. Warum sie manchmal in verhältnismäßig großen Mengen, dann wieder garnicht auftritt.

c) Reduktionsvermögen gegen 2,6-Dichlorphenol-Indophenol und Versuche der Reindarstellung.

Nach dieser Feststellung, war die zweite Beobachtung noch interessanter. Bei der Titration unserer üblichen essigsauren Auszüge erhielten wir mit durchschnittlich 1350 ccm. Farblösungsverbrauch für 10 gr. Blätter einen Wert, der in dieser Höhe bisher noch nicht bekannt ist. Es wurden natürlich sofort von größeren Mengen Blättern Auszüge hergestellt, diese konzentriert und die Isolierung in Angriff genommen.

Aber leider gelangte man auch hier, wie bei der Birke, nicht zur Gewinnung. Alle Fällungen mit Bleiessig, Bleiacetat, kolloidalem Eisenhydroxyd, Aether, Aceton usw. auch teilweise fraktioniert durchgeführt, ergaben unter großen Verlusten an Reduktionsvermögen als reinstes Produkt einmal ein dickes rotbraunes Öl mit einem scheinbaren Aequivalentgewicht von 280. Weitere Reinigungsversuche hatten keinen Erfolg.

Bei dem sehr hohen Reduktionswert der Walnußblätter mußte auch mit anderen reduzierenden Körpern, neben der Ascorbinsäure, gerechnet werden. Hierfür kamen besonders α-u.β-Hydrojuglon (20) in Frage, die sich beide in allen grünen Teilen des Walnußbaumes finden. Es sind dieses zwei Trioxynaphtaline, von deren OH-Gruppen möglicherweise eine Reduktionswirkung ausgehen kann.

Auch hier mußte also der Tierversuch klarstellen, ob nur die Ascorbinsäure für das Reduktionsvermögen der Walnußblätter maßgebend war. Der Beweis wurde durch den positiven Ausgang des Tierversuches erbracht.

d) Tierversuch.

Der Versuch wurde mit Meerschweinchen genau in der gleichen Weise durchgeführt, wie seinerzeit auch mit dem Birkenblätterextrakt.

Es waren wieder drei Gruppen zu je drei Tieren, dazu kamen zwei negative und zwei positive Kontrolltiere. Letztere bekamen während der ganzen Versuchsdauer als Vitaminträger Orangensaft. Verfüttert wurde Hafer, autoklaviertes Heu und Milch, deren Herstellung auf S. 15 beschrieben ist. Die Eingewöhnungszeit dauerte 10 Tage, dann zeigten die Tiere eine gleichmäßige Gewichtszunahme.

Gewicht der Tiere von 5 zu 5 Tagen.

Gruppe	Tier Nr.	Versuchstage. 1	5	10	15	20	25	30	35	40
I.	1.	250	268	290	306	304	338	366	388	400
	2.	254	264	300	318	350	382	414	432	440
	3.	254	260	280	292	292	306	320	350	366
II.	4.	242	250	276	300	336	374	402	444	452
	5.	236	252	258	260	268	282	300	312	324
	6.	236	238	264	278	290	317	334	378	390
III.	7.	220	228	248	260	290	324	362	398	420
	8.	226	244	272	296	326	350	352	384	400
	9.	220	228	256	266	294	310	328	360	362
positive Kontrolltiere	10.	192	212	244	262	280	312	322	358	380
	11.	212	240	240	272	304	312	330	340	356
negative Kontrolltiere	12.	230	228	232	212	180	gest. nach 21 Versuchstgn.			
	13.	234	250	228	184	176	gest. nach 20 Versuchstgn.			

Gruppe I erhielt: Eine Extraktmenge, die einem Reduktionsvermögen von 7 ccm. Farblösung entspricht.
Gruppe II erhielt: Eine Extraktmenge, die einem Reduktionsvermögen von 14 ccm. Farblösung entspricht.
Gruppe III erhielt: Eine Extraktmenge, die einem Reduktionsvermögen von 21 ccm. Farblösung entspricht.
Die positiven Kontrolltiere erhielten: täglich 2 ccm. Orangensaft.
Die negativen Kontrolltiere erhielten: nur die Grundkost.

In Gruppe I erhielt jedes Tier eine Walnußblätterextraktmenge, die 7 ccm. unserer n/1000 Farblösung reduzierte. In Gruppe II wurde die doppelte und in Gruppe III die dreifache Menge angewandt. Der Versuch wurde wieder 80 Tage lang ausgedehnt. Die Gewichtsverhältnisse von 5 zu 5 Tagen sind aus nachfolgender Tabelle zu ersehen.

45	50	55	60	65	70	75	80	Gesamtzunahme in Gramm
400	382	362						112
460	474	505	518	530	542	576	602	348
384	384	409	424	440	442	450	466	212
484	526	540	560	586	592	606	616	374
340	360	366	370	384	388	392	420	184
420	434	454	480	500	510	514	520	284
440	490	512	538	562	596	614	638	418
412	444	468	480	496	528	550	568	342
372	402	428	440	460	472	490	522	302
396	430	446	470	480	506	520	538	346
376	406	432	442	466	474	526	528	316
								—54
								—62

Versuchsverlauf.

Die beiden negativen Kontrolltiere Nr. 12 und Nr. 13 zeigten uns das übliche Krankheitsbild. Die ersten 8 bis 10 Tage hatte der Körper noch Vitamin C-Reserven, es war eine gleichmäßige Gewichtszunahme festzustellen und auch äußerlich waren gegenüber den anderen Tieren keine Unterschiede bemerkbar. Dann aber begann eine schnelle Abmagerung, das Fell wurde struppig, die Tiere saßen teilnahmlos in einer Käfigecke, zuletzt versagte auch der Afterschließmuskel und nach 20 Tagen starb Tier Nr. 13 nach 21 Tagen Tier Nr. 12. Der Sektions-

befund bei beiden Tieren ergab das typische Skorbutbild. Die Zähne waren in den morschen Kieferknochen stark gelockert. Es fanden sich Blutungen in der Brustmuskulatur und in den Kniegelenken. Die Gallenblasen waren übergroß und prall gefüllt. Die Knochen waren brüchig. Die anderen Tiere, mit Ausnahme von Nr. 1 machten alle einen gesunden Eindruck.

Das Tier Nr. 1, das im Anfang des Versuchs normal zunahm, hatte schon stets die sonst bei Meerschweinchen nicht beobachtete Angewohnheit gezeigt, meist auf der rechten Seite zu liegen und das linke Hinterbein angewinkelt wegzustrecken. Etwa vom 33. Tage ab, stockte die gleichmäßige Gewichtszunahme, die Werte pendelten zwischen 380 gr. und 400 gr. Gleichzeitig machte sich eine gewisse Freßunlust bemerkbar. Nur Heu und wenig Milch wurden noch angenommen. Beim Drücken auf das zuletzt immer deutlicher geschonte Bein, konnte anfangs ein Anzeichen von Schmerzempfindung nicht festgestellt werden.

Am 55. Versuchstag wurde außer starkem Gewichtsverlust, eine deutliche Lähmung der gesamten Hinterbeinmuskulatur beobachtet, außerdem zum ersten Male Zeichen von Schmerz. Da das Tier sichtbar litt, wurde es getötet und seziert.

Sektionsbefund:

Die Knochen der Bein- und Brustmuskulatur waren fest, die Zähne in keiner Weise gelockert. Die inneren Organe waren alle gesund, Gallenblase, Milz und Nebennieren durchaus normal. Also Skorbutanzeichen waren nicht vorhanden.

Als Krankheitsursache fand sich eine auffallend starke Blutung im Oberschenkel des linken Hinterbeins, die noch ganz frisch war, also scheinbar erst kurz vorher aufgetreten war. Ein zu Rate gezogener medizinischer Sachverständiger erklärte die Blutung mit einer angeborenen Gefäß-Schwäche; dabei dehnt sich ein so betroffenes Gefäß immer mehr aus und platzt zuletzt. Infolge der Gefäßvergrößerung wird hierbei möglicherweise ein Nerv immer stärker gedrückt, wodurch dann die Lähmungserscheinungen verursacht werden. Da die erwähnte Blutung noch ganz frisch war, muß man annehmen, daß die letzten Krankheitserscheinungen, wie Schmerzanzeichen und starke Lähmung, mit ihr direkt im Zusammenhang standen. Mit der Tötung wurde somit scheinbar gerade der Zeitpunkt erfaßt, an dem kurz vorher das Gefäß geplatzt war.

Alle übrigen Tiere waren nach 80 Versuchstagen vollkommen gesund und munter. Der Versuch wurde deshalb nach dieser Zeit abgebrochen.

Es zeigte sich also auch hier, ebenso wie bei den Birkenblättern (s. S. 19), daß das gesamte Reduktionsvermögen der Walnußblätter gegen

unsere n/1000 Farblösung auf Ascorbinsäure beruht. Andere eventuell noch vorhandenen reduzierenden Stoffe wurden also mit unserer Titrationsmethode hier vermutlich nicht erfaßt.

Schlusswort

Die wesentlichen neuen Befunde dieser Arbeit sind wohl darin zu sehen, daß die Ascorbinsäure in einzelnen Blätterarten gegenüber anderen stark angereichert ist, wo sie ihren Sitz zum Teil in den drüsenartigen Organen dieser Pflanzenteile hat. Weiterhin bestätigte sich eine wesentliche Abhängigkeit von Witterungseinflüssen, wobei es allerdings noch ungeklärt ist, worauf die Änderung des Reduktionsvermögens hier zurückzuführen ist. Möglich ist eine vollkommene Zersetzung, aber auch die Bildung der reversiblen ersten Oxydationsstufe, die wir mit unserem Farbstoff nicht erfassen und die Rückreduktion durch die Pflanze ist in Erwägung zu ziehen. Bei einigen Pflanzenproducten, bei denen der Beweis, daß Reduktionsvermögen und Ascorbinsäure identisch sind, von besonderer Bedeutung war; wurde neben eingehenden chemischen Untersuchungen, die dabei gefundenen Ergebnisse auch im Tierversuch restlos sichergestellt. So konnte bewiesen werden, daß das sehr hohe Reduktions-Vermögen der Walnußblätter und auch das der Birkenblätter von der Ascorbinsäure herrührt.

Die vorliegende Arbeit wurde im Universitäts-Institut für Nahrungsmittelchemie zu Frankfurt am Main, auf Anregung des inzwischen verstorbenen Institutsdirektors: Herrn Prof. Dr. J. Tillmans begonnen und nach seinem Tode unter Leitung seines beauftragten Nachfolgers: Herrn Dr. phil. habil. R. Strohecker durchgeführt.

Ich erlaube mir, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. J. Tillmans † und Herrn Dr. phil. habil. R. Strohecker, meinen hochverehrten Lehrern; sowie Herrn Dr. R. Vaubel, für die jederzeit bereitwilligst erteilten wertvollen Ratschläge und das rege Interesse, das sie meiner Arbeit entgegenbrachten, meinen herzlichen Dank zu sagen.

Schriften-Nachweis.

1) J. Tillmans: Zeitschr. f. Untersuchung der Lebensmittel 1927, 54, 33.

2) — „ —: Zeitschr. f. Untersuchung der Lebensmittel 1930, 60, 34.

3) F. Siebert: Inaugural-Disert. Ffm. 1931.

4) J. Tillmans: P. Hirsch: R. Vaubel: Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel 1933, 65, 147.

5) E. Helm: Inaugural-Dissert. Ffm. 1935.

6) H. Goldschmidt: Inaug.-Dissert. Ffm. 1935.

7) L. Kröber: Das neuzeitliche Kräuterbuch 1933.

8) H. Baier: Inaugural-Dissert. Ffm. 1934.

9) J. Effern: „ „ 1934.

10) K. Ensslin: „ „ 1935.

11) Th. Harth: „ „ 1935.

12) H. Stammler: „ „ 1933.

13) G. Kraus: Zeitschr. f. Untersuchung der Lebensmittel 1934, 68, 377.

14) H. Nink: Inaugural-Dissert. Ffm. 1934.

15) J. Jackisch: „ „ 1932.

16) E. Baumann: N. Metzger: Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Vol. 30 Oct.-June 1932—33.

17) N. Schepilewskaja: N. J. Griasnow: E. N. Alexejewa-Rukina: Zeitschr. f. Untersuchung der Lebensmittel 1934, 68, 404.

18) F. V. von Hahn: Zeitschr. f. Untersuchung der Lebensmittel 1933 66, 261.

19) A. Giroud: C. P. Leblond: Archives d'Anatomique Mikroskopique Nr. 1. April 1934.

20) G. Klein: Handb. d. Pflanzenanalyse II. Bd. Spezielle Analyse I. Seite 337.

Lebenslauf

Ich, H a n s H e n k e , wurde am 6. April 1908 in Franfurt a/Main-Griesheim als Sohn des Chemikers Dr. phil. Kurt Henke geboren. Ich besuchte in Frankfurt a/Main das Goethe-Gymnasium und das Realgymnasium Musterschule, wo ich Ostern 1928 das Zeugnis der Reife erhielt. Danach studierte ich an der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt a/Main Chemie und nachdem ich meine chemischen Verbandsexamina abgelegt hatte, begann ich im Mai 1934 am hiesigen Universitätsinstitut für Nahrungsmittelchemie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. J. Tillmans die vorliegende Arbeit und führte sie nach dessen Ableben unter seinem beauftragten Nachfolger Herrn Dr. phil. habil. R. Strohecker zu Ende.